

KADAR SAPONIN DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
Filicium decipiens (Wight & Arn.) Thwaites **TERHADAP**
Staphylococcus aureus, *Escherichia coli* DAN *Candida albicans*

Siti Mahyuni dan Trirakhma Sofihidayati
Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Pakuan
Email: sitimahyuni@unpak.ac.id

Diterima : 28 Agustus 2018

Direvisi : 20 November 2018

Disetujui : 13 Desember 2018

ABSTRAK

Tanaman *Filicium decipiens* atau kiara sabun dikenal sebagai tanaman penghasil saponin yang merupakan golongan metabolit sekunder dengan toksisitas tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengukur kadar saponin dan menguji aktifitas antibakteri serta anti jamur dari ekstrak daun *F. decipiens*. Metode penelitian meliputi ekstraksi daun segar dan daun kering *F. decipiens* menggunakan metode soxhlet dengan defatisasi, pengukuran kadar saponin, pengujian aktifitas ekstrak (konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans* dengan metode difusi agar Kirby-Bauer dan penentuan nilai lebar daerah hambat (LDH) dan konsentrasi hambat minimum (KHM). Hasil penelitian menunjukkan daun kiara payung memiliki kadar saponin cukup tinggi yaitu 125 mg/g (12,5%) pada daun segar dan 97 mg/g (9,7 %) dan pada daun kering. Ekstrak methanol kiara payung pada konsentrasi 80% juga menunjukkan aktifitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan diameter LDH mencapai 22,6 mm pada ekstrak daun segar dan 22 mm pada ekstrak daun kering. Konsentrasi hambat minimum baik pada ekstrak daun segar maupun ekstrak daun kering adalah 14%. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kiara payung memiliki kadar saponin yang cukup tinggi dan aktifitas antibakteri yang kuat sehingga berpotensi untuk diteliti dan dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan antibiotik alami.

Kata Kunci: *Filicium decipiens*, kiara payung, saponin, antibiotik alami

SAPONIN CONTENT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Filicium decipiens* (Wight & Arn.) Thwaites LEAVES EXTRACT ON *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, AND *Candida albicans*

ABSTRACT

Filicium decipiens or kiara sabun are known as saponin-producing plants which are a group of secondary metabolites with high toxicity. This study was carried out with an objective to determine saponin content and investigate the antibacterial and antifungal activity of methanolic extract of *Filicium decipiens*. The extracts were produced from fresh and dry leaves by soxhlet extraction methods combined with defatization process. The antibacterial and antifungal activities of methanolic extracts (10%, 20%, 40%, 60%, and 80%) produced from fresh and dry leaves of *F. decipiens*

were tested against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* using Kirby-Bauer disc diffusion method. The results showed that total saponin content of fresh and dry leaves of *F. decipiens* were 125 mg/g (12.5%) and 97 mg/g (9.7 %) respectively. The methanolic extracts of both fresh and dry leaves showed no effects on *E. coli* and *C. albicans* culture but exhibit the strong activity against *S. aureus*. The average of zone of inhibition formed on *S. aureus* culture were 22.6 mm (fresh leaves methanolic extract) dan 22 mm (dry leaves methanolic extract). The results of this study suggested that *F. decipiens* has potent as the source of natural antibacterial compounds.

Key words: *Filicium decipiens*, saponins, natural antibiotics

PENDAHULUAN

Hingga saat ini penyakit-penyakit infeksi masih merupakan penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian terutama di negara-negara berkembang (Mulholand dan Adegbola, 2005). Penanganan dan pencegahan penyakit-penyakit infeksi ini selama beberapa dekade bersandar pada pemberian antiseptik dan antibiotik sintetik. Namun penggunaan antiseptik dan anti antibiotik sintetik yang berkepanjangan dan tidak rasional ternyata menimbulkan efek negatif yaitu resistensi atau kekebalan bakteri terhadap antibiotik. Pada tahun 2005, lebih dari 19.000 kasus kematian di Amerika dan Inggris disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik metisilin (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*/MRSA) (Kennedy *et al.*, 2009). Kasus kematian yang disebabkan MRSA di Inggris meningkat tajam dari 51 kasus pada tahun 1993 sampai 1.652 tahun 2006. Strain *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas veronii* yang diisolasi dari air minum, pasien rumah sakit, dan daging menunjukkan resistensi terhadap ampicilin, amoksilin, sefasetril, kloksilin, linkomisin, spiramisin, dan penisilin (Orozova *et al.*, 2008).

Penelitian untuk mendapatkan bahan-bahan alami dari tanaman yang lebih aman digunakan sebagai alternatif antiseptik ataupun antibiotik sintetis telah lama dilakukan dan menunjukan hasil-hasil yang positif (Farjana *et. al.*, 2014).

Namun pada umumnya penelitian terhadap bahan alam lebih banyak terfokus pada tanaman-tanaman obat yang telah dikenal luas memiliki efek-efek farmakologis sementara beberapa jenis tanaman lain yang sangat mudah didapat kurang mendapat perhatian.

Pohon peneduh *Filicium decipiens* yang dikenal dengan nama lokal kiara payung atau ki sabun adalah tanaman yang mudah didapat di daerah-daerah tropis dan mampu menghasilkan bahan mentah dalam jumlah yang besar. Kiara payung termasuk ke dalam famili *Sapindaceae*, yaitu famili tanaman penghasil saponin sehingga diperkirakan kiara payung memiliki kandungan saponin dan toksitas yang cukup tinggi. Sejak ratusan tahun lalu tanaman dengan kandungan saponin tinggi seperti *Panax ginseng* atau *Glycyrrhiza glabra* telah digunakan sebagai bahan obat (Fiore *et al.*, 2005).

Hasil-hasil penelitian menunjukan bahwa saponin memiliki toksitas tinggi dan memiliki kemampuan membunuh protozoa, moluska, merusak pencernaan protein dan penyerapan vitamin dan mineral dalam usus, menyebabkan hipoglikemia dan bertindak sebagai anti jamur dan anti virus (Yoshiki *et al.* 1998, Sparg *et al.*, 2004 dan Sahu *et al.*, 2008). Di samping toksik, saponins juga menunjukan aktifitas farmakologis khususnya sebagai agen anti kanker (Hu dan Yao, 2002) dan manfaat lain yang luas misalnya sebagai bahan baku untuk produksi hormon-hormon steroid dan

bahan pendamping pada industri vaksin (Sun *et al.*, 2009 dan Güçlü-Üstündag dan Mazza, 2007).

Kiara sabun, diperkirakan memiliki kandungan saponin yang tinggi namun tidak dikenal sebagai tanaman beracun sehingga produk-produk yang dihasilkan dari tanaman ini diharapkan cukup aman penggunaannya. Aspek-aspek inilah yang menjadikan tanaman kiara payung dipilih dalam penelitian ini sebagai tanaman alternatif penghasil antibiotik alami yang mudah diperoleh, aman digunakan, dan mudah didapatkan dengan jumlah melimpah.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun segar dan daun kering kiara payung dari pohon kiara payung yang tumbuh di daerah Bogor, Jawa Barat. Biakan strain murni bakteri gram positif *E. coli*, bakteri gram negatif *S. aureus* dan biakan jamur patogen *C. albicans* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA, Universitas Pakuan. Akuades, n-hexan, metanol 70%, chloroform, medium MHA (Mueller Hilton agar), medium BHI (brain-heart infusion medium), dan medium SDA (Sabouraud Dekstrosa Agar) dengan kualitas pro Analisa produk dari Merck & Co., Inc. dan Sigma-Aldrich Inc.

Cara Kerja

Ekstraksi Sampel Metode Soxhlet dengan Defatisasi

Sebanyak 100 g serbuk kering daun *F. decipiens* diekstrak menggunakan alat sokhlet dengan 1000 ml n-heksan selama 24 jam. Filtrat kemudian ditampung dan ampasnya dianginkan sampai kering. Proses ekstraksi diulangi menggunakan ampas ditambah dengan 500 mL etanol 70% sampai pelarutnya jernih. Filtrat etanol yang dihasilkan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga beratnya

konstan. Ekstrak kental dimasukkan ke dalam corong pisah 500 mL, dilarutkan dengan 70 mL akuades, ditambah dietil eter dan dikocok sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air yang mengandung saponin diambil lalu ditambah n-butanol dengan volume yang sama. Lapisan n-butanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai beratnya konstan. Prosedur ekstraksi yang sama dilakukan menggunakan sampel daun segar kiara payung yang telah dihaluskan dengan *blender* untuk mendapatkan ekstrak daun segar. Ekstrak daun kering dan ekstrak daun segar disimpan dalam botol tertutup berwarna coklat untuk digunakan pada penelitian selanjutnya.

Penentuan Kadar Saponin

Kadar saponin ditentukan berdasarkan metode Rajpal (2000). Sebanyak 20 g serbuk bahan dan 100 ml metanol direfluks selama 30 menit, kemudian filtratnya diambil dan sisa serbuk direfluks dua kali lagi masing-masing menggunakan 50 ml metanol. Filtrat metanol kemudian diuapkan dengan rotari evaporator dan residu yang dihasilkan direfluks dengan 50 ml petroleum eter pada suhu 60-80 °C selama 30 menit. Setelah dingin, larutan petroleum eter dibuang, residu yang tertinggal di dalam labu dilarutkan dalam 50 ml etil asetat. Larutan etil asetat dibuang, residu yang tertinggal di dalam labu dilarutkan dalam 50 mL n-butanol sebanyak tiga kali. Seluruh larutan butanolik dicampur dan diuapkan pada tekanan hampa. Residu yang tertinggal di dalam labu dilarutkan dalam 10 mL metanol 90% kemudian larutan ini diteteskan ke dalam 50 ml dietil eter sambil diaduk. Residu yang terbentuk dalam campuran dituang pada kertas saring yang telah ditimbang. Endapan dicuci dengan 5 mL eter dan dikeringkan sampai beratnya konstan. Berat akhir ini dihitung sebagai berat saponin yang

terkandung dalam bahan.

Penentuan Lebar Daerah Hambat dan Konsentrasi Hambat Minimum

Aktifitas ekstrak daun kiara payung terhadap bakteri *E. Coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan mengukur lebar daerah hambat (LDH) menggunakan metode difusi agar Kirby-Bauer. Koloni bakteri *E. Coli* dan *S. aureus* dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensiakan ke dalam 0,5 ml medium TSB (trypticase soy broth), diinkubasi 5-8 jam pada suhu 37°C. Suspensi ditambah akuades steril sampai kekeruhan 10^8 colony forming unit (CFU) menurut standar Mc Farland. Untuk jamur *C. albicans* digunakan *sabouraud dextrose agar* (SDA). Satu koloni jamur *C. albicans* dari biakan sebelumnya diambil menggunakan jarum ose, dioleskan pada permukaan SDA dan inkubasi pada suhu kamar selama 1 – 2 hari. Satu koloni dari biakan pada SDA selanjutnya diambil dan disuspensiakan kedalam 0,5 ml BHI cair dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Suspensi kemudian diencerkan dengan aquadest steril sampai kepekatan 1×10^8 CFU/mL.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan menggunakan media *nutrient agar* NA., didinginkan hingga mencapai suhu sekitar 45° C, dituang ke dalam cawan petri steril dengan ketebalan antara 2 mm dan dibiarkan membeku. Ke atas masing-masing permukaan medium NA diteteskan satu tetes suspensi *E. coli*, suspensi *S. aureus*, dan suspensi *C. albicans* kemudian diratakan menggunakan batang L. Untuk masing suspensi dibuat tiga cawan ulangan. Diatas medium NA tersebut selanjutnya diletakan kertas-kertas cakram yang masing-masing telah dicelupkan kedalam ekstrak dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, dan 80% $\mu\text{g}/\text{mL}$, aquadest (kontrol negatif), 0,25% tetrasiiklin (kontrol positif). Medium NA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada temperatur

37°C.

Lebar daerah hambat (LDH) yang terbentuk di sekitar cakram setelah periode inkubasi diukur dan data yang dihasilkan dianalisis dengan analisis varian satu arah (one way anova) menggunakan program Statistical Product Services Solution (SPSS 17) pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dilanjutkan dengan uji Duncan.

Pengukuran konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan setelah diperoleh data lebar daerah hambat. Nilai KHM digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari ekstrak *F. decipiens* yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Uji KHM dilakukan dengan cara kerja seperti pada cara kerja uji aktifitas antibakteri, dengan konsentrasi ekstrak 10%, 12%, 14%, 16%, dan 18% dan 20%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Fisik Ekstrak dan Kadar Saponin Total

Ekstrak yang didapat dari serbuk kering dan serbuk segar memiliki karakteristik fisik dan kandungan saponin total sedikit berbeda seperti terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 1. Kandungan saponin pada ekstrak dari daun segar lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan saponin pada ekstrak daun kering. Demikian juga dengan nilai rendemen dari daun segar lebih besar dibandingkan dengan nilai rendemen dari ekstrak daun kering. Hasil ini berbeda dengan dengan hasil penelitian sebelumnya (Rachmawati *et. al.*, 2006) yang menyatakan bahwa ekstrak daun turi kering menghasilkan kadar saponin lebih tinggi dari ekstrak daun turi segar. Perbedaan ini kemungkinan berkaitan dengan adanya perbedaan jenis senyawa-senyawa saponin yang terkandung dalam daun *F. decipiens* dibandingkan dengan senyawa-senyawa saponin yang terdapat pada daun turi.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa

kadar saponin daun kiara payung mencapai 12,5%. Kadar ini dapat dikatakan tinggi jika dibandingkan dengan kadar saponin pada beberapa tanaman lain misalnya 3% pada daun lidah mertua (Mien *et al.*, 2015), 7,3% pada daun lidah buaya, 4,9% pada buah mengkudu, dan 5% pada daun mimba (Rosida, 2002), namun masih di bawah kadar saponin yang terdapat pada tanaman lerak yang nilainya di atas 20% (Yuliana *et al.*, 2014) atau kadar saponin pada ginseng 6,7–11,3 % (Dong *et al.*, 2003).

Tabel 1. Karakteristik Fisik dan Kadar Saponin Total Ekstrak Serbuk Kering dan Ekstrak Serbuk Segar *F. decipiens*

Karakteristik Fisik	Ekstrak	
	Daun Kering	Daun Segar
Kandungan Saponin Total	125 mg/g (12,5%)	97 mg/g (9,7 %)
pH	4,5	4,5
Warna	Kuning tua	Hijau pekat
Nilai Rendemen	27%	34%



Gambar 1: Ekstrak serbuk kering (kiri) dan ekstrak serbuk basah (kanan) daun *F. decipiens* pada konsentrasi 60%

Hasil Uji Lebar Daerah Hambat dan Konsentrasi Hambat Minimum

Ekstrak serbuk kering dan ekstrak daun segar kiara payung menunjukkan aktifitas inhibisi terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, namun tidak terhadap bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan jamur patogen *Candida albicans*. Aktifitas inhibisi ditunjukkan dengan terbentuknya LDH di sekitar kertas cakram uji. Nilai LDH ekstrak daun segar dan ekstrak daun kering dalam satuan millimeter dapat dilihat pada tabel 2 dan 3, sedangkan perbandingan dan signifikansinya dapat dilihat pada Tabel 4. LDH ekstrak daun kiara payung juga dapat dilihat pada Gambar 2 dan nilai KHM dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 2. Lebar Daerah Hambat Ekstrak Daun *F. decipiens* Segar Terhadap Bakteri *S. aureus*

	LDH (mm)						
	K (-)	K (+)	10%	20%	40%	60%	80%
Rata-rata	0	32,86	0	14,75	16	22,5	22,6
STDEV	0	0,023		0,0723	0,06742	0,06455	0,041742

Tabel 3. Lebar Daerah Hambat Ekstrak Daun *F. decipiens* Kering Terhadap Bakteri *S. aureus*

	LDH (mm)						
	K (-)	K (+)	10%	20%	40%	60%	80%
Rata-rata	0	32,86	0	12	14,625	19,7	22
STDEV	0	0,023		0,056408	0,056909	0,080716	0,063365

Tabel 4. Perbandingan Lebar Daerah Hambat Ekstrak Daun Kiara Payung Segar dan Ekstrak Daun Kiara Payung Kering Terhadap Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi ekstrak	LDH (mm)	
	Ekstrak daun segar	Ekstrak daun kering

10%	0	0
20%	14.75 ^a	12 ^c
40%	16 ^b	14.625 ^a
60%	22.5 ^d	19.7 ^e
80%	22.6 ^d	22 ^d

Keterangan : superkrip huruf yang sama tidak memperlihat perbedaan yang nyata

Tabel 5. Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Segar dan Ekstrak Daun Kering Kiara Payung Terhadap Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi Ekstrak	KHM (mm)	
	Ekstrak daun segar	Ekstrak daun kering
10%	0	0
12%	0	0
14%	6.5	6
16%	6.5	6.5
18%	9.75	8.5
20%	14.5	13



Gambar 2: Lebar daerah hambat ekstrak serbuk kering daun *F. decipiens* terhadap bakteri *S. aureus*

Data hasil uji aktifitas inhibisi ekstrak daun kiara payung terhadap bakteri *S aureus* menunjukan bahwa baik ekstrak daun segar maupun ekstrak daun kering memiliki *F. decipiens* memiliki efektifitas yang cukup tinggi sebagai agen anti bakteri berdasarkan ketentuan McDermott dan Hartley (1989) sebagai berikut:

- Daerah hambat 20 mm atau lebih berarti ekstrak memiliki aktivitas sangat kuat.
- Daerah hambat 10 – 20 mm berarti ekstrak memiliki aktivitas kuat.
- Daerah hambat 5 – 10 mm berarti ekstrak memiliki aktifitas sedang.
- Daerah hambat 5 mm atau kurang berarti ekstrak memiliki aktivitas lemah.

Diameter zona hambat ekstrak

serbuk basah dan ekstrak serbuk kering pada konsentrasi 80% masing-masing mencapai 22.6 mm pada ekstrak daun segar dan 22 mm pada ekstrak daun kering, sehingga masuk kedalam kategori ekstrak dengan aktifitas sangat kuat. Tingginya aktifitas ekstrak terhadap bakteri *S. aureus* dapat dikaitkan dengan tingginya kadar saponin pada daun kiara payung yang mencapai 12.5% pada ekstrak daun segar dan 9.7% pada daun kering. Dari data ini terlihat korelasi positif antara kadar saponin dengan aktifitas anti bakteri dimana peningkatan kadar saponin sejalan peningkatan aktifitas antibakteri. Aktifitas antibakteri *S. aureus* senyawa saponin yang diekstrak dari tanaman telah dibuktikan oleh penelitian sebelumnya (Rosyidah, et. al., 2010). Toksisitas saponin terhadap bakteri umumnya terjadi dengan cara merusak

protein pembentuk membran sel bakteri dan menurunkan permeabilitasnya. Kerusakan permukaan membran berakibat terjadinya lisis dan kematian pada bakteri (Madduluri *et al.*, 2013).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Daun kiara payung terbukti memiliki kadar saponin relatif tinggi yaitu 125 mg/g (12,5%) pada daun segar dan 97 mg/g (9,7 %) pada daun kering serta menunjukkan aktifitas anti bakteri yang kuat ditunjukkan dengan adalanya LDH sebesar 22,6 mm (ekstrak daun segar) dan 22 mm (ekstrak daun kering). Dengan karakteristik ini, tanaman kiara payung berpotensi dijadikan tanaman penghasil bahan kimia alami yang dapat dimanfaatkan dalam industri farmasi.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk:

1. Mengetahui metoda penanganan sampel dan metoda ekstraksi yang tepat sehingga didapatkan ekstrak yang optimal.
2. Mengetahui senyawa-senyawa spesifik pada daun *F. decipien* yang berperan sebagai senyawa antibakteri.
3. mengembangkan potensi daun kiara payung menjadi produk antibiotik alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbosa, A. D. P. 2014. An overview on the biological and pharmacological activities of saponins. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6(8): 47-50.
- Desai, S., D.G. Desai dan H. Kaur. 2009. Saponins and their biological activities. Pharma Times. 41(3): 13-16.

- Farjana, A., N. Zerin, dan S. Kabir. 2014. Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 4 (Suppl. 2): S505-S1018.
- Fiore, C., M. Eisenhut dan E. Ragazzi. 2005. A history of the therapeutic use of liquorice in Europe. *J. Ethnopharmacol.* 99:317–324
- Hu, K. dan X. Yao. 2002. The cytotoxicity of protoneodioscin (NSC-698789), a furostanol saponin from the rhizomes of *Dioscorea colletti* var. hypoglaucia against human cancer cells *in vitro*. *Phytomedicine*. 9:560–562.
- Jia, L. dan Y. Zhao. 2009. Current evaluation of the millennium phytomedicine-ginseng: etymology, pharmacognosy, phytochemistry, market and regulations. *Curr. Med. Chem.* 16: 2475–2484.
- Kennedy, J., P. Baker, C. Piper dan D.W. Dobson. 2009. Isolation and analysis of bacteria with antimicrobial activities from the marine sponge *Haliclona simulans* collected from Irish waters. *Mar. Biotechnol.* 11:384-396.
- Le,T.H., G.J. Lee, H.K. Vu, S.W. Kwon, N.K. Nguyen, J.H. Park, M.D. Nguyen. 2015. Ginseng saponins in different parts of *Panax vietnamensis*. Chemistry and Pharmacy Bulletin. 63(11): 950-954.
- Madduluri, S., K. Rao, K. Babu dan B. Sitaram. 2013. *In vitro* evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4): 679-684.
- McDermott, S. N. dan T.F. Hartley. 1989. New datum handling methods for

the quality control of antibiotic solutions and plates used in the antimicrobial susceptibility test.
Journal of Clinical Microbiology.
27 (8): 1814 – 1825.

Mien D. J., W.A. Carolin dan Firhani, P. A. 2015.
Penetapan kadar saponin pada ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata Prain varietas S. Laurentii*) secara gravimetri. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*.
2(2): 65 – 69.

Orozova, P., V. Chikova, R. Nenova, M. Konovska dan H. Najdenski. 2008.

- Antibiotic Resistance of Potentially Pathogenic Aeromonas Strains. *Trakia Journal of Sciences.* 6:71-77.
- Rachmawati, N. O., S. Suranto dan S. Solichatun. 2006. Pengaruh variasi metode pengeringan terhadap kadar saponin, angka lempeng total (ALT) dan bakteri patogen ekstrak simplisia daun turi (*Sesbania grandiflora*(L.) Pers. *Biofarmasi.* 4 (1): 4-9.
- Rajpal V. 2002. *Standardization of Botanicals, Testing and Extraction Methods of Medicinal Herbs.* Volume 1. Eastern Publication. New Delhi-India.
- Rosida J. 2002. Uji saponin dalam lidah buaya, limbah buah mengkudu dan daun mimba. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti 2002. Balai Penelitian Ternak LIPI.*
- Rosyidah, K., S.A. Nurmuhaimina, N. Komari dan M.D. Astuti. 2010. Aktifitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kastur (*Mangifera kasturi*). *Alchemi.* 1(2): 65 – 69.
- Sahu, N.P., S. Banerjee, N.B. Mondal dan D. Mandal. 2008. Steroidal saponins. *Progress In The Chemistry of Organic Natural Products.* 89: 45 -141.
- Sun, Y., T.T. Cai dan X.B Zhou. 2009. Saikosaponin a inhibits the proliferation and activation of T cells through cell cycle arrest and induction of apoptosis. *Int Immunopharmacol.* 9: 978–983.
- Tamura, Y., M. Miyakoshi dan M. Yamamoto. 2012. Application of Saponin-Containing Plants in Foods and Cosmetics. IntechOpen, DOI: 10.5772/53333. Available from: <https://www.intechopen.com/books/alternative-medicine/application-of-saponin-containing-plants-in-foods-and-cosmetics>.
- Thakur, M., M.F. Melzig, H. Fuchs, dan A. Weng. 2011. Chemistry and pharmacology of saponins: Special focus on cytotoxic properties. *Botanics: Targets and Therapy.* 1: 19-29.
- Toone, E.J. 2011. Bacterial infection remains a leading cause of death in both Western and developing world. Preface. *Advance Enzymoloy and Related Areas of Molecular Biology.* 2011(77): xi-xiii.
- Yuliana P., E.B. Laconi, E. Wina dan A. Jayanegara. 2014. Extraction of tannins and saponin from plant sources and their effect on in vitro methanogenesis and rumen fermentation. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 39(2): 91-97.